

学 位 論 文 題 名

第 6 染色体上の Vogt - 小柳 - 原田病疾患
感受性遺伝子部位同定の試み

学位論文内容の要旨

要旨

Vogt-小柳-原田病 (VKH 病) は、初期症状として見られる髄膜炎症状 (頭痛、項部痛)、内耳症状 (耳鳴り、めまい)、感音性難聴、脱毛、回復期に起こる毛髪白変、皮膚白斑を伴い、両眼性の汎肉芽腫性ぶどう膜炎を起こす疾患である。メラノサイトに対する自己免疫疾患であると考えられており、視力予後は比較的良好であるが、遷延化する例や再発を繰り返す症例もみられる。また、その発症メカニズムはいまだ解明されていない。

本疾患は東南アジア、中南米のヒスパニックなどに多く見られ、白人では稀である事も知られている。このうち、アジア人では HLA-DRB1*0405、メキシコ人では DRB1*0405 および DRB1*0101 との非常に強い相関が報告されている。しかし、これらの国々における HLA-DRB1*0405 の頻度は高値であるにもかかわらず、HLA-DRB1*0405 を有する人の多くが VKH 病を発症しないことから、HLA-DRB1*0405 以外にも発症に関与する要因が複数存在する、多因子疾患であると考えられる。

本研究では原田病患者 52 例、健常人コントロール 46 例を対象とした。はじめに、sequence based typing (SBT) 法を用いて HLA クラス遺伝子、polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法を用いて HLA クラス 2 遺伝子の HLA タイピングを試みたところ、これまでの報告と同様に HLA-DRB1*0405 の表現型頻度は患者群で 78.8%、コントロール群で 21.7% と患者群で有意な増加を示し ($p=1.63 \times 10^{-8}$ 、 $P_c=2.77 \times 10^{-7}$ 、 $\chi^2=31.9$)、その他のアリルでは有意差はみられなかった。

多因子疾患の感受性遺伝子を検索するには、マイクロサテライトによる多型解析が有用であることが知られている。そこで本研究では、HLA 遺伝子領域や HLA 関連遺伝子である HFE 遺伝子、MIC 遺伝子、RAET1 遺伝子が存在する第 6 染色体上に 44 個のマイクロサテライトマーカーを設定し、HLA-DRB1 遺伝子以外に原田病の感受性遺伝子となる遺伝子が存在するか否かを検索した。44 個のマイクロサテライトマーカーのうち、HLA-DRB1 遺伝子のテロメア側 8400kb に位置する D6S276 (6 p22.2) は $P_c=2.33 \times 10^{-10}$ 、 $\chi^2=44.9$ 、4000kb セントロメア側に位置する D6S291 (6 p21.31) は $P_c=1.28 \times 10^{-4}$ 、 $\chi^2=18.4$ と、患者群とコントロール群で有意差がみられた。しかし、D6S276 と D6S291 の間にはすでに原田病と強い相関の知られている HLA-DRB1 遺伝子以外にも、テロメア側から HFE 遺伝子、MICA 遺伝子、MICB 遺伝子という HLA 関連遺伝子が存在し、そのほかに

も数多くの遺伝子が存在する。これは、HLA-DRB1 遺伝子の存在する HLA 遺伝子領域がヒトゲノムの平均よりも約 4 倍遺伝子密度の高い領域であるためである。このため、D6S276 と D6S291 の間の遺伝子の中に、HLA-DRB1 以外の原田病感受性遺伝子が存在する可能性が示唆された。

また、HLA 領域の存在する第 6 染色体短腕とは別の、第 6 染色体長腕に位置する D6S1581 ではより強い有意差がみられた ($P_c=2.80 \times 10^{-23}$ 、 $\chi^2=112.5$)。D6S1581 の周囲には類表皮癌と相関が知られている MAS1 遺伝子、insulin-like growth factor II 受容体をコードしており、肝細胞癌や乳癌患者でその変異が報告されている IGF2R 遺伝子、ミトコンドリア L18P リボソーム蛋白の 39S サブユニットをコードしている MRPL18 遺伝子、精神発達遅延と相関が報告されている ACAT2 遺伝子などが存在する。しかし、これらの遺伝子は原、原田病のような自己免疫疾患やメラノサイト関係疾患との相関はいまだ報告されていない。

以上の 3 マーカーに加え P_c 値が 0.05 未満となったマーカーは D6S1573 ($P_c=2.42 \times 10^{-2}$ 、 $\chi^2=9.4$)、D6S270 ($P_c=2.53 \times 10^{-2}$ 、 $\chi^2=9.3$)、D6S1697 ($P_c=2.63 \times 10^{-2}$ 、 $\chi^2=6.9$) の計 6 マーカー (13.3%) となった。以上の結果より HLA-DRB1*0405 以外にも原田病の発症に関与する遺伝子の存在が示唆された。今後はさらにマーカー数を増やすことで、原田病感受性遺伝子の同定と、その発症機序の解明が期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 大 野 重 昭

副 査 教 授 小 野 江 和 則

副 査 教 授 笠 原 正 典

学 位 論 文 題 名

第 6 染色体上の Vogt - 小柳 - 原田病疾患

感受性遺伝子部位同定の試み

Vogt-小柳-原田病 (VKH 病) は、アジア人では HLA-DRB1*0405、メキシコ人では DRB1*0405 および DRB1*0101 との非常に強い相関が報告されている。しかし、これらの国々における HLA-DRB1*0405 の頻度は高値であるにもかかわらず、HLA-DRB1*0405 を有する人の多くが VKH 病を発症しないことから、HLA-DRB1*0405 以外にも発症に関与する要因が複数存在する、多因子疾患であると考えられる。

本研究では原田病患者 52 例、健常人コントロール 46 例を対象とし、HLA タイピングを試みたところ、これまでの報告と同様に HLA-DRB1*0405 の表現型頻度は患者群で有意な増加を示し ($p=1.63 \times 10^{-8}$, $P_c=2.77 \times 10^{-7}$, $\chi^2=31.9$)、その他のアリルでは有意差はみられなかった。そこで第 6 染色体上に 44 個のマイクロサテライトマーカーを設定し、HLA-DRB1 遺伝子以外に原田病の感受性遺伝子となりうる遺伝子が存在するかどうかを検索した。その結果、設定したマーカーのうち、HLA-DRB1 遺伝子の両側に位置する D6S276 (6 p22.2, $P_c=2.33 \times 10^{-10}$, $\chi^2=44.9$) と D6S291 (6 p21.31, $P_c=1.28 \times 10^{-4}$, $\chi^2=18.4$) は患者群とコントロール群で有意差がみられた。しかし、D6S276 と D6S291 の間にはすでに原田病と強い相関の知られている HLA-DRB1 遺伝子以外にも、HFE 遺伝子、MICA 遺伝子、MICB 遺伝子という HLA 関連遺伝子を含め、数多くの遺伝子が存在する。このため、D6S276 と D6S291 の間の遺伝子の中に、HLA-DRB1 以外の原田病感受性遺伝子が存在する可能性が示唆された。

また、第 6 染色体長腕に位置する D6S1581 ではより強い有意差がみられた ($P_c=2.80 \times 10^{-23}$, $\chi^2=112.5$)。しかし、D6S1581 周辺の遺伝子に、原田病のような自己免疫疾患やメラノサイト関係疾患との相関はいまだ報告されていない。

以上の 3 マーカーに加え P_c 値が 0.05 未満となったマーカーは D6S1573 ($P_c=2.42 \times 10^{-2}$, $\chi^2=9.4$)、D6S270 ($P_c=2.53 \times 10^{-2}$, $\chi^2=9.3$)、D6S1697 ($P_c=2.63 \times 10^{-2}$, $\chi^2=6.9$) の計 6 マーカー (13.3%) であった。以上の結果より HLA-DRB1*0405 以外にも原田病の発症に関与する遺伝子の存在が示唆された。今後はさらにマーカー数を増やすことで、原田病感受性遺伝子の同定と、その発症機序の解明が期待される。

学位審査では副査小野江教授より (1) D6S1581 近傍のメラノーマ関連遺伝子の有無、(2) 第 6 染色体短腕上の遺伝子数、(3) Caucasoid とモンゴロイドの明らかな遺伝子の相違の報告の有無についての質問がでたが、(1) メラノーマ関連の遺伝子は D6S1581 周辺には存在せず、今後第 6 染色体以外に存在するメラノーマ関連遺伝子を解析していく方針であること、(2) 短腕上には HLA 遺伝子領域を含め非常に多くの遺伝子が存在し、その一つ一つの遺伝子を解析していくことは困難であること、(3) 疾患と遺伝子の相関については調べられているが、Caucasoid とモンゴロイドの明らかな遺伝子の相違はなされていない、と回答した。また、副査笠原教授より

(1) D6S1581 周囲の遺伝子検索領域を広げても原田病に関連しそうな遺伝子はないのか、(2) DR4 の世界分布のスライドは HLA-DRB1*0405 ではなく、DR4 について表示している点について、(3) 秋田犬での原田病発症例ではどのような現象がみられたかについて質問がでたが、(1) D6S1581 前後 300kb 以内には炎症性疾患やメラノーマとの相関を報告された遺伝子はないこと、(2) 地域によっては DR4 のレベルまでしか解析されておらず、原田病と相関が報告されている DRB1*0405 の世界における分布地図は作成することができなかったこと、(3) 秋田犬でもヒトと同様のメラノサイト存在部位での炎症所見がみられることを回答した。また、主査より、第6染色体以外の染色体での検討について質問があり、ゲノムワイドな検索を進めたいが、効率良く研究をすすめるためにメラノーマや自己免疫疾患と相関が知られている遺伝子や HLA 遺伝子関連領域に焦点を絞り、解析を進めていく予定であるとの回答がなされた。

この論文は、HLA 以外の遺伝子と原田病との相関について世界で始めて報告している点で高く評価され、今後発症機序の解明、さらには臨床への応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。